

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-292385

(43)公開日 平成7年(1995)11月7日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 1 B	5/00			
A 2 3 D	9/00			
A 2 3 L	3/3436			
C 0 7 H	17/04			
C 0 9 K	15/08			

審査請求 未請求 請求項の数5 F D (全 6 頁)

(21)出願番号 特願平7-63560

(22)出願日 平成7年(1995)2月28日

(31)優先権主張番号 特願平6-58349

(32)優先日 平6(1994)3月4日

(33)優先権主張国 日本 (J P)

(71)出願人 000234074

萩原 義秀

兵庫県宝塚市平井山荘4番14号

(72)発明者 萩原 義秀

兵庫県宝塚市平井山荘4番14号

(74)代理人 弁理士 小田島 平吉 (外1名)

(54)【発明の名称】 魚油の酸化防止剤

(57)【要約】

【構成】 2'-O-グルコシルイソビテキシを有効成分として含有する魚油の酸化防止剤。

【効果】 ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸、オクタデカテトラエン酸のような不飽和度の高い脂肪酸を含む魚油又は魚油を構成成分として含む食品の酸化防止に有効である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 2'-O-グルコシルイソビテキシンを有効成分として含有することを特徴とする魚油の酸化防止剤。

【請求項2】 魚油がドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸及び／又はオクタデカテトラエン酸を含有するものである請求項1記載の酸化防止剤。

【請求項3】 緑葉に2'-O-グルコシルイソビテキシンを含む緑色植物の該緑葉の搾汁液もしくはその乾燥粉末、緑葉繊維粉末或いはその2'-O-グルコシルイソビテキシン含有抽出エキス又は粗精製物もしくは単離物の形態で2'-O-グルコシルイソビテキシンを含有する請求項1記載の酸化防止剤。

【請求項4】 緑色植物が麦類である請求項3記載の酸化防止剤。

【請求項5】 請求項1～4のいずれかに記載の酸化防止剤が添加された魚油を構成成分として含有する食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、魚油、特にドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸及び／又はオクタデカテトラエン酸のような不飽和度の高い脂肪酸を含む魚油の酸化防止剤に関する。

【0002】

【従来の技術】魚類をはじめとする動物からの油脂の採取（採油）は、乾式法または湿式法によつて行われる。採油された油脂は食用に供されるために精製される。油脂の精製は、油脂中の水分及び不溶性物質の除去、油脂中の可溶性物質であるガム質の除去、遊離脂肪酸のアルカリ精製による除去、色素類の除去（脱色）、減圧下での蒸気吹き込みによる揮発性物質の除去（脱臭）等の工程を経て行われる。

【0003】このようにして精製される油脂は、更にその目的により水素添加、エステル交換反応、溶剤による分別などにより更に精製、改良される。このような工程により得られる魚油或いは魚油を構成成分として含有する食品には、通常、酸化を防止するために酸化防止剤が添加される。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、精製魚油又は魚油を構成成分として含有する食品（本発明では、これらを「魚油」と総称する）のための酸化防止剤を提供することである。

【0005】魚油が酸化されると、その風味及び栄養価が低下するばかりではなく、魚油に含まれる不飽和脂肪酸の酸化の連鎖反応により生成する各種の過酸化物は生体に対する有害作用を有することが明らかにされている。

【0006】そのような魚油の酸化を防止するための1つの手段として、ブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒ

ドロキシアニソール等のような合成抗酸化剤の添加が効果的であるが、これらの合成抗酸化剤はその毒性のため、最近食品に対する使用が制限されはじめ、天然由来の抗酸化剤の使用が注目されつつある。

【0007】現在、合成抗酸化剤に代わる天然由来の抗酸化剤として、アスコルビン酸、トコフェロールまたはその誘導体を使用されているが、その抗酸化性は低く、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸、オクタデカテトラエン酸のような高度不飽和脂肪酸を含有する魚油等の酸化防止のためには不十分である。

【0008】本発明者らは、麦類、特に大麦の若葉に酸化防止効果に優れた成分が含まれていること、その活性の本体が2'-O-グルコシルイソビテキシンであることを究明し、先に提案した（特開平5-65480号公報）。

【0009】そして、本発明者は、上記2'-O-グルコシルイソビテキシンの各種物質に対する酸化防止効果について検討した結果、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸、オクタデカテトラエン酸などの高度不飽和脂肪酸を含有する魚油の酸化防止のために極めて有効であることを見出し本発明を完成するに至つた。

【0010】

【問題を解決するための手段】しかして、本発明によれば、2'-O-グルコシルイソビテキシンを有効成分として含有することを特徴とする魚油の酸化防止剤が提供される。

【0011】本発明の酸化防止剤は、精製魚油それ自体に添加配合することができ、或いは魚油を構成成分として含有する食品、例えば健康食品に添加することもできる。

【0012】2'-O-グルコシルイソビテキシン（以下、GIVと略称する）は、緑色植物において植物の酸化的損傷からの防御等の役割を果す抗酸化活性物質であり、麦類をはじめとする各種の緑色植物中に存在し、古くはカタバミ(*Oxalis acetosella* L.)から抽出した例が報告されており[Chem. Ber., 109, 2901-2907 (1976)]、本発明者らも、前述したとおり、麦類植物の緑葉からの抽出・単離に成功している（特開平5-65480号公報）。

【0013】しかして、本発明においては、GIVを含有する緑色植物から、その使用目的等に応じて必要な程度まで濃縮ないし抽出・精製処理することにより得られるGIV含有物質を魚油の酸化防止剤として使用することができる。しかし勿論、化学合成法によって製造されたGIVを使用することもできる。

【0014】原料となるGIV含有緑色植物としては、麦類植物が好適であるが、それ以外に、クローバー、アルファルファ、ケール、ハウレン草、レタス、パセリ、セロリ、キヤベツ、白菜、水菜、ピーマン、ニンジン緑葉、大根緑葉、ササ、アシタバなどの牧草類、野菜類、

山野草類植物等もまた使用することができる。

【0015】一方、好適に使用される麦類植物としては、大麦が最も適しているが、その他に、小麦、裸麦、エン麦、ハト麦、トウモロコシ、キビ、イタリアンダイグラスなどもまた使用することができる。

【0016】これら緑葉植物、殊に麦類植物の中でも成熟期前に収穫した若い植物の新鮮な茎及び／又は葉の部分（本明細書ではこれらを総称して「緑葉」という）が特に適している。

【0017】以下、麦類植物、例えば大麦からのGIVの抽出についてさらに詳しく説明する。

【0018】麦類植物の緑葉はまず、ミキサー、ジューサー、等の機械的破砕手段によって搾汁し、必要に応じて、篩別、濾過等の手段によって粗固形分を除去することにより搾汁液（以下、これを「青汁」という）を調製する。この青汁はGIVをある程度の濃度で含有しているので、該青汁又はそれを凍結乾燥、噴霧乾燥等の適当な乾燥手段で乾燥することにより得られる青汁粉末は、本発明の酸化防止剤として、魚油を構成成分とする食品に添加することができる。

【0019】次いで、上記青汁又は青汁粉末を充分量の水又はn-ヘキサンで抽出処理する。この抽出処理は通常室温で行なうことができ、場合によっては2回又はそれ以上繰り返し行なってもよく、それによって、水溶性成分又はn-ヘキサンの実質的に不溶性の成分を分離回収する。回収された抽出成分（抽出エキス）はこの段階で前記と同様にして乾燥し固形化することができる。この固形分はさらに精製されるが、必要に応じてそのまま魚油の酸化防止剤として、魚油を構成成分として含む食品に添加してもよい。

【0020】かくして得られる水溶性成分又はn-ヘキサン不溶性成分を次いで含水率が0～80%、好ましくは10～70%、さらに好ましくは15～50%の無水又は含水エタノール、例えば含水率20%の含水エタノールで抽出処理を行ない、該含水エタノールに可溶性の成分を分離回収する。

【0021】この含水エタノールによる抽出処理は、前記の如くして調製される青汁もしくはそれから水不溶性成分を完全に除去した緑葉の水溶性成分又はそれらを凍結乾燥、噴霧乾燥等の適当な乾燥手段で乾燥して得られる粉末に対して直接行なうこともできる。

【0022】このようにして回収された無水又は含水エタノール可溶性成分は、そのまま或いは濃縮又は溶媒を留去することにより、GIV粗精製物として魚油の酸化防止のために使用することができる。

【0023】さらに所望に応じて、上記含水エタノール可溶成分を適当な吸着剤、例えばStyrene-DVB樹脂吸着剤（例えば、ローム・アンド・ハース社製、アンバーライト®吸着剤XAD-2）等で処理し且つ含水率0～80%、好ましくは20～70%、さらに好ましくは

30～60%の無水又は含水メタノールで溶離処理を行なうことによって、該無水又は含水メタノールに可溶性の成分を回収することができる。これによってさらに酸化防止活性に優れた画分を取得することができる。

【0024】さらにまた、このようにして麦類植物から回収される無水又は含水メタノール可溶性成分は、例えば含水率が30～70%、好ましくは40～60%の含水メタノールを用いて再結晶精製することにより、GIVを微黄色結晶として単離することができる。

【0025】さらに、麦類植物を前述の如くして搾汁した後に搾汁粕として残る緑葉繊維にもGIVがかなり含まれており、これはそのまま乾燥粉碎して魚油を構成成分とする食品に添加してもよく、或いはこの緑葉繊維又はその乾燥粉碎物を前記と同様に水で抽出するか及び／又は無水もしくは含水エタノール又はメタノールで抽出することによりGIV含有抽出エキス又はGIV粗精製物、さらにはGIV単離物を得ることができる。

【0026】本発明の魚油の酸化防止剤の有効成分であるGIVは、実質的に純粋な単離物である必要はなく、上記の如く麦類植物の緑葉の抽出処理過程で得られる搾汁液もしくはその乾燥粉末、緑葉繊維粉末、或いはこれらのGIV含有抽出エキス又はGIV粗精製物の形態であってもよい。

【0027】また、本発明の酸化防止剤は、医薬品用又は食品用賦形剤又は増量剤（例えば、デキストリン、デンプン、プロピレングリコールなど）と共に粉末状、液状等の形態に製剤化してもよく、また、必要に応じて、アスコルビン酸、トコフェロールまたはその誘導体等の他の酸化防止剤を併用してもよい。

【0028】麦類植物の緑葉の搾汁液又はその乾燥粉末は、GIVの他に、各種ミネラル類、ビタミン類、葉緑素、タンパク質、SOD等を豊富に含んでおり、魚油を構成成分として含有する食品に添加することにより、該食品中の魚油の酸化腐敗防止に有効であるのみならず、健康維持にも役立つ。

【0029】しかして、本発明の酸化防止剤は、精製魚油に配合することができる（この場合には、GIVは粗精製物又は単離物の形態のものが好ましい）のみならず、例えば、カプセル剤型の食品、粉末油脂状食品等の魚油を構成成分として含有する各種の食品にも添加することができる。

【0030】魚油は、空気中で酸素と魚油に含まれる不飽和脂肪酸が反応して遊離基を生成し、この遊離基はさらに酸化され、過酸化物を生成する。そしてこの過酸化物は自己触媒的に作用して酸化反応は急激に進行する。従つて、本発明の酸化防止剤は、この過酸化が起こるよりも以前の段階に魚油に添加することが望ましく、例えば、魚油の精製工程において、脱臭操作後直ちに添加するか、或いは溶剤による分別時に添加するのが好適である。

【0031】また、魚油を構成成分として含有する食品に添加する場合には、その食品の加工の任意の過程において或いは加工直後に添加配合することが望ましい。この場合添加する酸化防止剤は、食品の種類、使用目的等に応じて、前述したいずれかの形態のものを選択して使用することができる。

【0032】本発明の酸化防止剤の添加量は、厳密に制限されるものではなく、魚油の種類等に応じて適宜変えることができるが、一般には、GIVとして魚油（食品の場合にはそれに含まれる魚油）の重量を基準にして0.005～5%、特に0.01～2%の範囲内が適当である。

【0033】

【実施例】以下、実施例により本発明についてさらに具体的に説明する。

【0034】実施例1：タラ肝油からのマロンアルデヒドのGC分析

試験管に、数種の濃度の2'-O-グルコシルイソビテキシンとタラ肝油、Cod Liver Oil [Sigma Chemical Company 製、約70%の（オクタデカテトラエン酸、エイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸）メチルエステルを含む] 20 μ L及びトリス塩酸緩衝液（0.25 mmol Trizma 緩衝液、pH7.4：0.75 mmol 塩化カリウム：0.2% SDS）5mLを注加して軽く振り混ぜた後、更にフェントン試薬（1 μ mol 塩化第二鉄／0.5 μ mol 過酸化水素水）を加え、37℃にて16時間反応させた。4%ブチルヒドロキシルエ*

表1. 魚油のフェントン反応による酸化の抗酸化剤による酸化抑制

抗酸化剤 (μ mol)	マロンアルデヒド (%)	
	2'-O-GIV	α -TOC
0	100.0	100.0
0.25	83.3	95.8
0.5	54.2	89.8
1	42.5	72.5
2	39.2	52.8

【0038】実施例2：タラ肝油からのグリオキサールのGC分析

試験管に数種の濃度の2'-O-グルコシルイソビテキシンと、タラ肝油 Cod Liver Oil 20 μ L及びトリス塩酸緩衝液（0.25 mmol Trizma 緩衝液、pH7.4：0.75 mmol 塩化カリウム：0.2% SDS）5mLを注加して軽く振り混ぜた後、更にフェントン試薬（1 μ mol 塩化第二鉄／0.5 μ mol 過酸化水素 ※50

*ン・エタノール溶液50 μ Lを加えて反応を停止させた後、N-メチルヒドラジン50 μ Lを加え室温にて1時間反応を行い、生成物の1つであるマロンアルデヒドを1-メチルピラゾールに誘導した。更にこれに飽和食塩水20mLを加え、ジクロロメタン15mLで3時間、連続抽出を行つた後、ジクロロメタン層を分取し、正確に10mLとし、更に内部標準液（1.6mM 2-メチルピラジン・ジクロロメタン溶液150 μ L）を加え、ガスクロマトグラフィー分析用試料とし、比較対照には α -トコフェロールを用いて同様に試料を調製した。1-メチルピラゾールは窒素-リン検出器（NPD）を装着した Hewlett-Packard Model 5880 gas chromatograph (Avondale, PA) を用いて分析した。

【0035】測定条件を以下に示す。

【0036】キャピラリーカラム：DB-WAX 30m \times 0.25mmID \times 0.25 μ m

カラム温度：60℃（保持2分）～200℃（保持10分）

昇温4℃/分

注入口温度：250℃

検出器温度：300℃

キャリアーガス：ヘリウム

得られた結果を下記表1に示す。2'-O-グルコシルイソビテキシンは α -トコフェロールよりも強い酸化抑制効果を示した。

【0037】

【表1】

※水）を加え、37℃にて16時間反応させた。4%ブチルヒドロキシルエ・エタノール溶液50 μ Lを加えて、反応を停止させた後、0.5M 1,2-フェニレンジアミン塩酸塩水溶液200 μ Lを加え室温にて1時間反応を行い、生成物の1つであるグリオキサールをキノオキサリンに誘導した。更にこれに飽和食塩水20mLを加え、ジクロロメタン15mLで3時間、連続抽出を行つた後ジクロロメタン層を分取し、正確に10mLと

し、更に内部標準液(10mMインドール・ジクロロメタン溶液100 μ L)を加え、ガスクロマトグラフィー分析用試料とし、実施例1と同様キノキサリンは窒素ーリン検出器(NPD)を装着した Hewlett-Packard Model 5880 gas chromatograph (Avondale, PA) を用いて分析した。

【0039】測定条件を以下に示す。

【0040】キャピラリーカラム: DB-WAX 30m \times 0.25mmID \times 0.25 μ m

カラム温度: 120 $^{\circ}$ C (保持0分) ~ 220 $^{\circ}$ C *10 【表2】

表2. 魚油のフェントン反応による酸化の抗酸化剤による酸化抑制

抗酸化剤 (μ mol)	グリオキサール (%)	
	2 $^{\circ}$ -O-GIV	α -TOC
0	100.0	100.0
0.25	93.0	99.1
0.5	61.7	98.3
1	28.7	97.4
2	26.1	96.5

【0042】実施例3

成熟期前の大麦の緑葉(若葉)を洗浄した後、搾汁して作られた青汁を噴霧乾燥して粉末化した青汁粉末100g及び魚油精製物150gに分散剤としてミツロウ25gを混合し、常法により270mgを軟カプセルに充填した。

【0043】実施例4

特開平5-65480号公報の実施例1に記載の方法により調製した、含水率20%のエタノール水溶液による大麦若葉の青汁粉末の抽出物20g、デキストリン50g、魚油精製物150g及び胚芽油30gに分散剤としてミツロウ25gを混合し、常法により270mgを軟カプセルに充填した。

【0044】実施例5

精製魚油25gとし、糖脂肪酸エステル0.5gとの混合物、実施例3と同様にして調製した大麦若葉の青汁粉末28g、デキストリン45g、クエン酸ナトリウム0.5g、ナトリウムカゼイン0.5g及びアラビヤガム0.5gを固形分濃度30%になるように水を加え、混合して乳化し、入口温度160 $^{\circ}$ C、出口温度100 $^{\circ}$ Cで噴霧乾燥を行い、大麦若葉エキス末入り粉末油脂92 $^{\circ}$ C※

* (保持20分)

昇温10 $^{\circ}$ C/分

注入口温度: 250 $^{\circ}$ C

検出器温度: 300 $^{\circ}$ C

キャリアーガス: ヘリウム

得られた結果を下記表2に示す。2 $^{\circ}$ -O-グルコシルイソビテキシンは α -トコフェロールよりも強い酸化抑制結果を示した。

【0041】

※を製造し、顆粒状に造粒した。

【0045】実施例6

精製魚油25gとし、糖脂肪酸エステル0.5gとの混合物、含水率20%のエタノール水溶液による大麦若葉の青汁粉末の抽出物(特開平5-65480号公報の実施例1の方法で調製)14g、デキストリン45g、還元麦芽糖14g、クエン酸ナトリウム0.5g、ナトリウムカゼイン0.5g及び(アラビヤガム0.5gを固形分濃度30%になるように水を加え、混合して乳化し、入口温度170 $^{\circ}$ C、出口温度110 $^{\circ}$ Cで噴霧乾燥を行い、大麦若葉エキス末入り粉末油脂90gを製造し、顆粒状に造粒した。

【0046】実施例7

実施例3、4、5及び6で得た大麦若葉エキス末入り魚油カプセル剤及び大麦若葉エキス末入り粉末油脂顆粒の酸化防止効果について、日本油化学協会編「基準油脂分析試験法 2.4.12-86」により過酸化価を測定することにより評価した。その結果を表3に示す。

【0047】

【表3】

表3: 大麦若葉の青汁粉末又はその80%エタノール抽出物の抗酸化作用

日 数 (日) ⁽¹⁾	過酸化物質 : POV ⁽²⁾ (meq/kg)			
	0	30	60	90
実施例 3	2.38	2.45	2.72	2.93
実施例 3A ⁽³⁾	2.43	3.22	4.25	5.22
実施例 4	2.41	2.34	2.43	2.52
実施例 4A ⁽³⁾	2.32	3.11	3.78	4.55
実施例 5	2.52	2.55	3.25	3.52
実施例 5A ⁽³⁾	2.72	3.92	5.25	7.12
実施例 6	2.72	2.81	2.95	3.25
実施例 6A ⁽³⁾	2.55	3.87	4.85	6.45

【0048】(1) 20℃で暗所に保存。

* リンを用いた場合の対照例。

【0049】(2) POV: 試料中の油脂1kgを基準とする過酸化物質。

【0051】上記の結果から、大麦若葉の青汁粉末又はその80%エタノール抽出物は魚油に対し顕著な抗酸化

【0050】(3) 大麦若葉エキス末の代りにデキスト*20 活性を示すことがわかる。